

LAS HOJAS DE OLIVO, FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS QUE PODRÍAN AYUDARNOS A COMBATIR LOS CORONAVIRUS ADEMÁS DE AL VIH

OLIVE LEAVES AS SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS THAT COULD HELP US AGAINST CORONAVIRUSES AND HIV

por CAROLINA VALLE PIQUERAS

LICENCIADA EN BIOLOGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. FUNDADORA DE OLIHOJAS

OLIHOJAS@GMAIL.COM

Se presentan en este estudio tres razones por las cuales se propone que las hojas de olivo quizás nos podrían ayudar a hacer frente a las infecciones por VIH y por coronavirus tales como SARS-CoV y SARS-CoV-2 (COVID-19):

1. Hay estudios que demuestran que ciertos componentes en las hojas de olivo, tales como los polifenoles hidroxitirosol (HT) y oleuropeína (Ole), son capaces de actuar efectivamente frente a un amplio espectro de microorganismos (bacterias, virus y hongos), muchos de ellos responsables de complicaciones nosocomiales^[1,2,3]. Podría ser interesante estudiar científicamente si las hojas de olivo podrían ayudarnos no solo a actuar directamente sobre virus como los coronavirus y el VIH^[4] sino también a reducir las posibilidades de complicaciones por microorganismos oportunistas, pudiéndose utilizar como medida profiláctica.
2. Otro motivo por el que las hojas de olivo podrían ayudarnos sería por la probada capacidad de hidroxitirosol y oleuropeína para generar el bloqueo de la glucoproteína implicada en el reconocimiento y posterior fusión y entrada del virus en su hospedador^[4,5,6,7].
3. Otra posible vía de acción sería mediante el impedimento de unión de los virus tipo coronavirus al receptor ACE2 de las células hospedadoras al no dejarle a los virus dicho receptor disponible^[8]. Gracias quizás a la oleuropeína^[9] y a ciertos péptidos presentes en el aceite de oliva, que también podrían encontrarse en las hojas^[10].

Veamos de forma más detallada cada una de estas tres vías o motivos por los que merecería la pena demostrar experimentalmente si las hojas de olivo podrían ayudarnos contra SARS-CoV-2 (COVID-19), SARS-CoV y VIH entre otros virus.

1. El potente y amplio espectro de acción antimicrobiana de las hojas de olivo podría atacar directamente a estos virus o bien servir de profilaxis:

Hay estudios que demuestran que hay componentes en las hojas de olivo, tales como los polifenoles Ole y HT, capaces de actuar frente a un amplio espectro de microorganismos (bacterias, virus y hongos)^[1,2,3]. Entre los virus en los que se ha visto efectividad están el herpes de la mononucleosis, el virus de la hepatitis, el rotavirus, el rinovirus bovino, el parvovirus canino, el virus de la leucemia felina, el virus

respiratorio sincitial, el virus parainfluenza tipo 3, así como el virus VIH, que comparte similitudes (de las que hablaremos) con los coronavirus^[1,4]. También ha sido demostrada una potente acción frente a bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*^[3], muchas veces causantes de complicaciones por infección nosocomial cuando presentan resistencia a los antibióticos más comúnmente utilizados. Así pues, por su acción antimicrobiana, se plantea desde aquí la posibilidad de utilizar de algún modo y concentración, las hojas de olivo tanto para actuar directamente sobre virus como los coronavirus y el VIH^[4], así como para reducir las posibilidades de complicaciones debidas a microorganismos oportunistas en los pacientes, por su amplio espectro de acción. Obviamente, esta propuesta debería ser previamente contrastada de forma experimental.

2. Las hojas de olivo presentan componentes que se podrían unir al virus (coronavirus y VIH), evitando la fusión con las células hospedadoras del paciente:

Los coronavirus son virus de ARN, envueltos y de cadena positiva, con los genomas más grandes dentro del grupo de virus ARN. Se caracterizan por poseer una glucoproteína incrustada en su superficie^[11,12] muy similar en estructura entre distintos tipos de coronavirus, y a su vez con similitudes a la de otros virus^[4]. El coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV) surgió hacia 2013 en el Sudeste asiático^[13] y comparte con el recientemente emergido SARS-CoV-2, que causa la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), un 80 % de su ARN^[8]. SARS-CoV-2 además comparte un 96 % con el coronavirus de murciélago Bat-SARSr-CoV RaTG13^[14]. Pues bien, a fin de buscar terapias conocidas que pudieran servir para hacer frente a SARS-CoV-2, nos podemos centrar en una estructura similar que comparte, con otros tipos de virus, la glucoproteína de su envuelta, la cual es esencial para la entrada viral en las células hospedadoras. A esta glucoproteína se le llama proteína *spike*, espicular o S^[12] y pertenece a un grupo de proteínas de fusión llamado clase I. Las proteínas de esta clase, poseen dos regiones que forman una conformación activa de fusión similar entre distintos tipos de virus llamadas regiones de repetición HR (HR1 y HR2). Así pues, la proteína de hemaglutinina del virus de la gripe, el gp160 del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la glucoproteína del virus del ébola y la proteína de fusión (proteína F) del paramyxovirus^[4], son todas glucoproteínas transmembranarias de clase I que se encuentran en la superficie de la membrana viral como oligómeros. La mayoría de estas glucoproteínas se sintetizan como precursores de una sola cadena que contienen un sitio de escisión para una proteasa; la escisión divide a los precursores en dos subunidades: S1 y S2 en coronavirus, hemaglutinina 1 y 2 en el virus de la gripe, gp120 y gp41 en el virus de inmunodeficiencia VIH, glucoproteína-1 y -2 en el virus del ébola, y F1 y F2 en el paramyxovirus^[4].

Todas estas proteínas incluidas en la clase I presentan como hemos mencionado, unas regiones de repetición llamadas HR1 y HR2 en la zona responsable de la fusión del virus con la membrana del hospedador (HR1 y HR2 de coronavirus se encuentran en la subunidad S2)^[4,8]. Las regiones HR1 y HR2 forman una estructura de horquilla capaz de yuxtaponer las superficies virales y celulares, facilitando así la fusión con la membrana celular y la posterior entrada viral^[4].

Ahora bien, centrándonos en la glucoproteína S

de los coronavirus y comparándola con la del VIH, podemos explicar, al analizar su estructura y función, cómo diversos componentes presentes en las hojas de olivo podrían ayudarnos a combatir a estos virus:

La subunidad distal (S1) de la proteína S contiene el dominio de unión al receptor. El dominio se llama RBD y el receptor ha sido demostrado ser la proteína ACE2^[8]. La subunidad anclada a la membrana (S2) contiene un posible péptido de fusión y dos regiones de repetición HR (HR1 y HR2)^[4,8]. Se espera que los agentes que previenen cambios conformacionales en la proteína de fusión (mediante la estabilización del estado intermedio) impidan la activación de la fusión y, por lo tanto, inhiban la entrada viral. Así es el caso de los péptidos como el T-20 (enfuvirtida), que en el caso del VIH pueden inhibir eficazmente la infección de manera dominante-negativa mediante la unión a ciertas regiones de la proteína encargada de la fusión viral, concretamente en regiones de gp41 que podría ser el equivalente a S2 en coronavirus^[4].

Pues bien, los trabajos de investigación de Lee-Huang y colaboradores^[5] identificaron la oleuropeína (Ole) y el hidroxitirosol (HT) como una clase única de inhibidores del VIH, a partir de extractos de hojas de olivo, eficaces contra la fusión viral y la integración. Encontraron que Ole y HT se unen al bolsillo hidrófobo conservado en la superficie del dominio de fusión de gp41 del VIH. Y es que desde antes venían informando que el extracto de hoja de olivo es potente contra este virus^[6]. El grupo de Lee-Huang no solo demostró que Ole y HT son activos inhibiendo la transmisión de VIH de célula a célula si no que también actúan inhibiendo la producción del antígeno núcleo viral p24.

Ole y HT son moléculas pequeñas con pesos moleculares de 539 Da y 153 Da, respectivamente. Su unión a gp41, provocando un redoblamiento que en definitiva impide la fusión del virus con la célula hospedadora, es un excelente ejemplo de cómo las moléculas pequeñas pueden bloquear la formación de complejos proteína-proteína. Lee-Huang y colaboradores ya en un artículo de 2007^[5] sugerían que Ole y HT pueden ser útiles contra otros virus con glucoproteína transmembranaria clase I, incluyendo coronavirus asociados al síndrome respiratorio agudo grave^[4,15], virus respiratorio sincitial, virus del ébola^[16], virus del sarampión^[17] y gripe aviar^[18,19].

Fuzeon (T-20 o enfuvirtida) es el único inhibidor de fusión del VIH aprobado por la FDA^[20,21]. Fuzeon se produce comercialmente por síntesis química. Debido a su gran tamaño, su proceso de fabricación es muy complejo, con 106 pasos químicos^[22,23]. Mientras que la Ole y el HT se pueden preparar fácilmente a partir de extracto de hoja de olivo natural en solo dos

pasos: desglucosilación y oxidación. Además, añade el grupo de investigación de Lee-Huang, que el hecho de que Ole y HT actúen tanto fuera como dentro de los ambientes celulares en la entrada e integración viral, ofrece beneficios únicos a estas pequeñas moléculas contra la resistencia viral.

Así que desde aquí animamos a que se considere la posibilidad de comprobar científicamente si el extracto de hojas de olivo o bien los componentes Ole y HT pudieran tener utilidad en el tratamiento de enfermedades virales.

3. Ciertos componentes de las hojas de olivo podrían unirse al receptor de coronavirus, entorpeciendo así la unión del virus con su receptor en la membrana celular:

Un estudio con humanos de 2011 concede al extracto de hojas de olivo (500 mg, 2 veces al día durante 8 semanas) un efecto similar al del fármaco antihipertensivo captopril (12,5 mg)^[9]. El captopril pertenece a una clase de medicamentos llamados inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE). Otros estudios demuestran que hay péptidos en el aceite de oliva capaces de unirse a ACE para inhibirla^[10], aunque no se especifica a qué tipos de ACE se unirían ni si realmente estos péptidos también se encuentran en las hojas de olivo. Pues bien, se ha demostrado que la glucoproteína S de los coronavirus SARS-CoV y SARS-CoV-2 tienen en ambos casos gran afinidad por el receptor ACE2^[8].

La función biológica de la proteína ACE2 es la maduración de la angiotensina 2, una hormona que controla la vasoconstricción y la presión arterial. ACE2 es una proteína de membrana que se expresa en pulmones, el corazón, los riñones y el intestino^[24].

El reconocimiento de los receptores por los coronavirus es el primer paso esencial para infectar las células huésped^[11,12]. La glucoproteína trimérica anclada en la superficie de los coronavirus (S) media la unión de estos a ACE2 humano. La glucoproteína S es cortada por la proteasa del huésped en dos polipéptidos separados: S1, que contiene el dominio de unión al receptor (RBD), y S2, que media la fusión del virión con las membranas celulares^[4] (en la estrategia que hemos mencionado en el apartado 2, Ole y HT sería sobre S2 donde actuarían). El motivo de unión al receptor en RBD, situado en S1, es responsable de la unión directa a ACE2 y su afinidad de unión puede afectar directamente a la infectividad del virus y a la transmisibilidad^[8].

Por lo tanto, dado que hay componentes en el extracto de hojas de olivo que podrían unirse a ACE2^[9,10], igual que los coronavirus, cabe pensar

en que podría haber una competencia entre los componentes del extracto de hojas de olivo y coronavirus por unirse a ACE2, lo que reduciría las posibilidades de fusión y por lo tanto de infección de las células hospedadoras. Aunque habría que demostrar a qué tipo de ACE se unen los componentes presentes en las hojas de olivo (oleuropeína y posibles péptidos). Posiblemente tanto a ACE1 como a ACE2 pues existen péptidos capaces de unirse igualmente a ACE1 como a ACE2^[25].

En resumen, hemos visto tres grandes frentes, motivos o vías por los que aquí se sugiere que puede merecer la pena estudiar científicamente si las hojas de olivo podrían ayudarnos a combatir la pandemia provocada por SARS-CoV-2 entre otras. Bien por su efecto antimicrobiano en general, sirviendo de profilaxis (apartado 1), por inhibición de la fusión virus-membrana del hospedador (apartado 2) o bien reduciendo las posibilidades de que el virus encuentre, en las células hospedadoras, receptores ACE2 disponibles a los que unirse (apartado 3). Los dos últimos apartados comparten el hecho de que impedirían al fin y al cabo la entrada del virus en las células hospedadoras, evitándose así la infección.

Los investigadores interesados tendrían que realizar los estudios pertinentes para comprobar todas las hipótesis aquí planteadas. Habría que determinar si la mayor efectividad la darían sus principales componentes activos (Ole y HT) por separado o bien el extracto más o menos concentrado por la grandiosa sinergia que tantas veces la naturaleza nos ofrece. Animo desde este artículo a que grupos de investigación se lancen a estudiar el potencial de las hojas de olivo (o de sus compuestos bioactivos) para el tratamiento de enfermedades virales.

Referencias

- [1] Bertelli M y otros. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *J Biotechnol.* 10;309:29-33, 2020.
- [2] Syed Haris Omar. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm* 78(2):133-54, 2010.
- [3] Himour S, Yahia A y Belattar H. Oleuropein and Antibacterial Activities of *Olea europaea* L. Leaf Extract. *European Scientific Journal* vol.13, No.6, 2017.
- [4] Xu Y y otros. Crystal structure of severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein fusion core. *J Biol Chem.* 19;279(47):49414-9, 2004.
- [5] Lee-Huang S y otros. Discovery of Small-Molecule HIV-1 Fusion and Integrase Inhibitors Oleuropein and Hydroxytyrosol: I. Fusion Inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 23; 354(4): 872-878, 2007.
- [6] Lee-Huang S y otros. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commun* 8;307(4):1029-37, 2003.

- [7] Bao J, Zhang DW, Zhang JZ, Huang PL, Huang PL, Lee-Huang S. Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *FEBS Lett* 12;581(14):2737-42, 2007.
- [8] Chunyun Sun y otros. SARS-CoV-2 and SARS-CoV Spike-RBD Structure and Receptor Binding Comparison and Potential Implications on Neutralizing Antibody and Vaccine Development. *BioRxiv*, 2020. DOI: 10.1101/2020.02.16.951723
- [9] Susalit E y otros. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: comparison with Captopril. *Phytomedicine* 15;18(4):251-8, 2011.
- [10] Alcaide-Hidalgo JM, Romero M, Duarte J, López-Huertas E. Antihypertensive Effects of Virgin Olive Oil (Unfiltered) Low Molecular Weight Peptides with ACE Inhibitory Activity in Spontaneously Hypertensive Rats. *Nutrients* 20;12(1), pii: E271, 2020.
- [11] Siddell S, Wege H, Ter Meulen V. The biology of coronaviruses. *J Gen Virol* 64 (Pt 4):761-76, 1983.
- [12] Cavanagh D. Coronavirus IBV: structural characterization of the spike protein. *J Gen Virol* 64 (Pt 12):2577-83, 1983.
- [13] Tsang KW, Mok TY, Wong PC, Ooi GC. Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Hong Kong. *Respirology* 8(3):259-65, 2003.
- [14] Longxian Lv, Gaolei Li, Jinhui Chen, Xinle Liang, Yudong Li, Cao y otros. Comparative genomic analysis revealed specific mutation pattern between human coronavirus SARS-CoV-2 and Bat-SARSr-CoV RaTG13. *Cell Discovery* 6:11, 2020.
- [15] Tripet B, Howard MW, Jobling M, Holmes RK, Holmes KV, Hodges RS. Structural characterization of the SARS-coronavirus spike S fusion protein core. *J Biol Chem* 279:20836, 2004.
- [16] Weissenhorn W y otros. Crystal structure of the Ebola virus membrane fusion subunit, GP2, from the envelope glycoprotein ectodomain. *Mol Cell* 2:605-616, 1998.
- [17] Lambert DM y otros. Peptides from conserved regions of paramyxovirus fusion (F) proteins are potent inhibitors of viral fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:2186-2191, 1996.
- [18] Normile D. Avian influenza. New H5N1 strain emerges in southern China. *Science* 314:742, 2006.
- [19] Wei DQ, Du QS, Sun H, Chou KC. Insights from modeling the 3D structure of H5N1 influenza virus neuraminidase and its binding interactions with ligands. *Biochem Biophys Res Commun* 344:1048-1055, 2006.
- [20] Oldfield V, Keating GM, Plosker G. Enfuvirtide: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 65:1139-1160, 2005.
- [21] Robertson D. US FDA approves new class of HIV therapeutics. *Nat Biotechnol* 21:470-471, 2003.
- [22] Bray BL. Large-scale manufacture of peptide therapeutics by chemical synthesis. *Nat Rev Drug Discov* 2:587-593, 2003.
- [23] Castagna A, Biswas P, Beretta A, Lazzarin A. The appealing story of HIV entry inhibitors: from discovery of biological mechanisms to drug development. *Drugs* 65:879-904, 2005.
- [24] Keiji Kuba y otros. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine* 11: 875-879, 2005.
- [25] Luhtala S y otros. Activities of angiotensin-converting enzymes ACE1 and ACE2 and inhibition by bioactive peptides in porcine ocular tissues. *J Ocul Pharmacol Ther* 25(1):23-8, 2009.